TOME XXVI, FASC. 4 1er DÉCEMBRE 1961

# REVUE DE MYCOLOGIE

Paraissant 5 fois par an

Fascicule consacré à la Mycologie et la Phytopathologie tropicales

*publiée et dirigée par*

ROGER HEIM

Membre de l'Institut (Académie des Sciences)
Directeur du Muséum National

*Rédacteur principal* :
CLAUDE MOREAU







LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
PARIS

LABORATOIRE DE MYCOLOGIE ET PHYTOPATHOLOGIE TROPICALES
DE L'ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES

12, RUE DE BUFFON, PARIS Ve

Périodique subventionné par le Centre National de la Recherche Scientifique

TOME XXVI, FASC. 4 1^er^ DÉCEMBRE 1961

# SOMMAIRE

## Travaux originaux



## Note succincte



## Analyses

TRAVAUX ORIGINAUX

# Aspects phytopathologiques du choix d'une plante de couverture

Par PIERRE DAVET

■

RÉSUMÉ

Parmi les souches issues de deux populations de *Ceratocystis fimbriata* Ellis et Halstead, l'une isolée de Crotalaire en Côte d'Ivoire, l'autre de Patate douce aux Etats-Unis, on reconnaît des types variés par leurs aspects culturaux, la fertilité de leurs thalles, les dimensions des périthèces et des spores asexuelles aussi bien que par leur parasitisme. Il semble que les souches de Côte d'Ivoire ne peuvent attaquer, dans cette contrée, que les seules Crotalaires; par contre, les souches d'origine américaine sont aptes à parasiter à la fois Crotalaire et Patate douce.

Parmi les plantes qui font depuis peu l'objet de cultures en Afrique intertropicale, certaines proviennent de peuplements naturels indigènes; d'autres, originaires de continents lointains, ont été introduites.

Un tel rassemblement sur de grandes surfaces de plantes jusqu'alors dispersées, leur mise en présence de parasites inconnus dans leur aire d'origine et l'introduction de parasites nouveaux jusque-là confinés à d'autres régions posent souvent des problèmes qu'aucune tradition agricole ne peut résoudre.

Le choix des plantes de couverture à associer aux cultures arbustives industrielles en est un exemple. Entre autres caractéristiques souhaitables, la culture auxiliaire ne doit pas être susceptible de servir de relais pour les organismes pathogènes capables d'attaquer la culture principale. Il est donc important que l'agronome tienne compte d'une étude phytopathologique préalable des possibilités de passage, de la plante de couverture à la culture arbustive et réciproquement, de parasites déjà présents dans la contrée ou risquant d'y être introduits. C'est dans cette optique que nous avons entrepris, en Côte d'Ivoire, l'étude de la biologie de l'Ascomycète *Ceratocystis fimbriata* Ellis et Halstead.

En Côte d'Ivoire, le *C. fimbriata* (= *Ophiostoma fimbriata* Nannf.) ne provoque de dommages appréciables que sur les seules Crotalaires. Mais, dans d'autres contrées, ce Champignon parasite aussi la Patate douce, souvent utilisée, comme les Crotalaires, en couverture du sol, et des arbres ou des arbustes tels que le Cacaoyer, le Caféier, l'Hévéa dont l'intérêt est majeur pour l'économie de l'Afrique intertropicale. Il importe donc de déterminer dans quelle mesure la présence de ce Champignon sur l'un de ses hôtes fait courir un danger aux autres plantes susceptibles de l'héberger.

## Le parasite

Deux populations de *C. fimbriata* ont été étudiées : l'une isolée de *Crotalaria juncea* à Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) et conservée au Muséum National d'Histoire Naturelle, l'autre isolée de Patate douce en Louisiane (Etats-Unis) et obtenue grâce à l'obligeance des Drs Olson et Martin.

Leurs caractéristiques biométriques sont les suivantes :

| ORIGINE DE LA SOUCHE | CROTALAIRE | PATATE DOUCE |
|---|---|---|
| *Endoconidies* | | |
| longueur ............. | 16,1 (6,0-37,5) µ | 18,1 (9,0-35,0) µ |
| largeur .............. | 3,7 (2,2- 6,0) µ | 3,6 (2,0- 5,0) µ |
| *Macroconidies* | | |
| longueur ............. | 14,5 (11-19) µ | 13,9 (10-18 ) µ |
| largeur .............. | 12,0 ( 9-16) µ | 10,1 ( 8-12,5) µ |
| *Périthèces* | | |
| diamètre ............ | 172 ( 90-300) µ | 172 ( 90- 280) µ |
| longueur du col ...... | 561 (210-940) µ | 727 (340-1200) µ |
| *Ascospores* | | |
| longueur ............. | 5,4 (4,0-7,0) µ | 6,9 µ |
| épaisseur ............ | 3,5 (3,0-4,5) µ | 4,8 µ |

Les deux souches, africaine et américaine, se sont révélées hétérogènes. La composition des deux populations a été déterminée par isolement d'ascospores après étalement à la surface d'une boîte de Pétri, en présence d'un agent mouillant.

a. ***population africaine*** *(Crotalaria juncea)*. Trois types ont été mis en évidence, grâce à des différences dans leur morphologie, leur biométrie et leur biologie.

— *type fertile à col long* (« V »). Sur bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé, le mycélium forme d'abord une petite tache grise, qui s'assombrit, la périphérie seule demeurant claire. Plus tard, l'aspect est duveteux, assez irrégulier; les touffes de mycélium aérien vert de gris donnent sa couleur à l'ensemble de la culture; les périthèces naissent en 7 à 8 jours et laissent exsuder une goutte muqueuse d'ascospores.

— *type fertile à col court* (« r »). Sur le même milieu nutritif, le démarrage de la culture est un peu plus lent. Elle est zonée, alternativement blanche et noire, d'aspect huileux. Les périthèces, peu nombreux, sont rarement coiffés par une masse d'ascospores.

Les différences biométriques entre les périthèces de ces deux lignées sont nettes :

| Origine | Longueur du col | Diamètre du périthèce |
|---|---|---|
| « V » | 683 (330-910) μ | 192 (130-260) μ |
| « r » | 336 (160-590) μ | 143 ( 90-230) μ |

— *type stérile* (« 2 »). Au début de sa croissance, le mycélium est blanc, puis il devient vert de gris ou gris, duveteux. Des aggrégats d'hyphes évoquent des sclérotes ou de jeunes fructifications, mais il ne se forme jamais de périthèces. Confrontées entre elles, les lignées de ce type demeurent stériles. Croisées avec le type « V », elles produisent des descendants qui possèdent les caractères de l'un ou de l'autre parent. Le croisement avec le type « r » conduit à des souches-filles formant des périthèces à col long ou court ou à des thalles qui demeurent indéfiniment stériles.

b. ***population américaine*** (Patate douce). Un type fertile et un type stérile ont été isolés. Ils diffèrent tous deux de leurs homologues africains.

— *type fertile* (« D »). Le mycélium forme, au bout de 2 jours, une petite tache grise au centre, blanche à la périphérie. Après cinq à six jours, il est grisâtre et il porte alors de très nombreux périthèces à col long dont la taille ne peut être comparée à celle des périthèces des souches « V » ou « r » (diamètre du périthèce : 179 (70-250) μ, longueur du col : 957 (550-1150) μ).

— *type stérile* (« O »). La culture apparaît d'abord vert de gris bordée de blanc. Puis la périphérie s'assombrit tandis que le centre reste clair. Il y a beaucoup de corps sclérotiques et de nombreuses endoconidies.

De plusieurs essais négatifs de confrontation entre la lignée amé-

ricaine fertile (« O ») et les principales lignées africaines, on peut provisoirement conclure qu'elles sont interstériles.

En résumé, la souche de *Ceratocystis fimbriata* locale et la souche importée des Etats-Unis pour comparaison, sont l'une et l'autre hétérogènes. Les constituants de ces deux populations sont différents par leurs aspects culturaux, par la fertilité de leurs thalles, par les dimensions des périthèces et des spores asexuelles. Ils diffèrent encore par leur parasitisme.

### Les hôtes

La sensibilité des plantes de couverture (Crotalaires, Patate douce) et des cultures arbustives (Hévéa, Caféier, Cacaoyer) a été étudiée expérimentalement par inoculation des diverses lignées de *Ceratocystis fimbriata* africaines et américaines.

a. *Crotalaria juncea.*

Un fragment de culture de *Ceratocystis fimbriata* est appliqué contre la tige, à quelques centimètres du collet, sans blessure de la tige, en atmosphère très humide, sous enveloppe de polyéthylène.

La période d'incubation est de 7 à 8 jours pour les Crotalaires âgées d'un mois, de 10 à 12 jours pour des Crotalaires âgées de 2 mois. On note d'abord un jaunissement des feuilles inférieures; peu de temps après, ou simultanément, le flétrissement débute au sommet de la plante. Puis les feuilles tombent, les inférieures d'abord; cette chute peut être soudaine et presque totale dès les premiers jours, ou au contraire très lente; les deux ou trois feuilles terminales ne se détachent pas, même lorsqu'elles sont sèches. Ce stade est atteint 2 semaines après l'apparition des premiers symptômes.

Les lignées américaines, qui proviennent de la Patate douce, sont toutes pathogènes vis-à-vis de *Crotalaria juncea,* sur laquelle elles provoquent même de fortes réactions. Par contre, une lignée africaine, du type « r », à col court, bien qu'appartenant à la population isolée sur Crotalaire, est incapable de provoquer des dommages sur cette plante.

b. *Crotalaria spectabilis.*

Cette espèce n'est pas signalée comme hôte naturel du *Ceratocystis* cependant elle peut être infectée très facilement, de la même manière que la *C. juncea.* Les symptômes et l'évolution de la maladie sont les mêmes. Sa sensibilité vis-à-vis des diverses lignées du Champignon est identique : le type « r » n'est pas pathogène.

c. *Patate douce.*

Les inoculations ont été réalisées sur des tubercules entiers ou en

tranches et sur des tiges, soit par dépôt de mycélium soit par aspersion d'une suspension de spores, avec ou sans blessure.

Les deux lignées américaines isolées de la Patate douce sont pathogènes pour les tubercules récoltés en Côte d'Ivoire. Les lignées africaines isolées de la Crotalaire n'infectent pas les tiges de la Patate et leur pénétration dans les tubercules est nulle ou limitée à quelques millimètres au-dessous de la surface qui peut noircir localement.

d. *Caféier.*

L'essai a été effectué en champ sur des *Robusta* de 3 à 4 ans. Une incision à la base du tronc, à environ 20 cm du sol, mettait le bois à nu sur une surface de 6 × 15 mm et un fragment de culture y était accolé. Une chambre en polyéthylène maintenait une forte humidité autour de la blessure. Chacune des lignées a été inoculée à une quinzaine d'arbres.

Après une semaine, la surface du bois avait noirci dans la moitié des cas chez les sujets infectés par les souches « 2 » et « V » et dans tous les cas pour la souche « D »; on notait un faible développement mycélien. Chez les sujets inoculés avec la souche « r », par contre, le bois était resté bois vivant, il n'y avait aucune croissance du Champignon et les lèvres des blessures commençaient à se refermer.

Trois semaines après l'inoculation, il n'y avait pratiquement plus trace de mycélium et les lésions étaient en voie de cicatrisation.

e. *Cacaoyer.*

Une technique d'inoculation analogue a toujours conduit à des résultats négatifs, sauf dans le cas de la lignée « D » qui a provoqué un brunissement léger du bois du tronc avant la cicatrisation des blessures. Cette même lignée entraîne le noircissement des blessures effectuées sur les cabosses mais le Champignon ne pénètre pas dans les tissus intacts.

f. *Hévéa.*

Les troncs ont été blessés au scalpel de façon à réaliser une entaille semblable à celle de la saignée. Un ruban de culture y a été déposé après le premier écoulement de latex. Une chambre humide en polyéthylène a été réalisée autour de la saignée.

Quelques jours après l'inoculation, on a noté une faible croissance en surface des souches « 2 » et « r », une croissance un peu plus marquée de la souche « V », et une nette extension sur le panneau de saignée de la souche « D » qui avait formé de nombreux périthèces mais, après une quinzaine de jours, le Champignon n'avait fait aucun progrès et la réparation de la blessure a débuté au bout de trois semaines.

## Conclusion

Dans la mesure où l'isolement de *Ceratocystis fimbriata* pratiqué sur *Crotalaria juncea* se révèlerait, au cours d'études ultérieures, comme bien représentatif des diverses souches présentes en Côte d'Ivoire, on peut conclure que ce parasite n'est actuellement capable d'attaquer, dans cette contrée, que les seules Crotalaires; ni l'Hévéa, ni le Cacaoyer, ni le Caféier, ni la Patate douce ne semblent susceptibles de subir des dommages de son fait.

Par contre, l'étude biologique d'un seul échantillon d'origine américaine révèle que les Crotalaires et la Patate douce pourraient être attaquées à la suite d'introductions accidentelles de ce parasite en provenance du continent américain. De nouvelles recherches de ce type sont encore nécessaires pour mesurer le danger que ferait courir l'arrivée de nouvelles populations de *Ceratocystis* aux cultures arbustives de la Côte d'Ivoire.

*(Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer.)*

# Action répressive de substances chimiques variées et de leurs solvants sur la croissance de quelques Champignons

## Incidence sur la forme des colonies fongiques

Par Claude et Mireille MOREAU

■

Résumé

Après avoir rappelé la technique permettant de comparer la toxicité de formules chimiques voisines et indiqué en référence les concentrations limites d'activité de trois fongicides d'usage courant, il est établi que la forme des colonies dépend surtout de la nature du Champignon, mais aussi de celle du produit chimique étudié. Le remplacement d'un radical par un autre sur un même noyau, le déplacement d'un même radical dans la molécule sont nettement discernés par les Champignons. Il y a lieu de se méfier de l'action propre du solvant qui, dans certains cas, peut être supérieure à celle du corps examiné aux concentrations faibles et ainsi masquer les doses limites d'activité.

Un moyen rapide pour comparer l'activité des fongicides sur un Champignon a été proposé (Moreau, 1959, 1960). Notre collaboration fut alors sollicitée pour une étude méthodique de la toxicité de dérivés organophosphorés à l'égard des êtres vivants. Pour élargir la gamme des résultats collectables, nous avons choisi quatre Champignons-tests systématiquement différents : *Pythium splendens* Braun, *Thielaviopsis paradoxa* (de Seynes) von Höhnel, *Fusarium roseum* (Lk.) Snyder et Hansen f. *culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. et *Rhizoctonia solani* Kühn. Le dépouillement d'une partie des données acquises nous a permis de discuter les relations entre l'activité fongicide et la structure chimique de quelques dérivés des acides ortho- et pyrophosphoriques et d'observer une certaine analogie avec les résultats obtenus par des tests pharmacologiques (Cheymol, Chabrier et coll., 1960, 1961; Moreau,

1961). Nous avons, de même, comparé quelques dérivés minéraux et organiques du Bore et montré que leur activité respective était essentiellement liée à l'importance de leur concentration en ions boriques (Moreau C., 1961).

La technique s'est révélée assez sensible pour nous permettre de faire différencier par les Champignons non seulement des substances chimiques complexes dont la molécule ne diffère que par un radical mais encore des isomères (Moreau M., 1961).

A ce degré de précision, la mesure linéaire des colonies se révèle insuffisante car, pour des données biométriques voisines, le même Champignon peut prendre des formes géométriques différentes. Nous en donnerons quelques illustrations.

## Rappel de la technique

Des boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre reçoivent chacune 20 ml de Maltea Moser gélosée (Maltea 1 %, gélose 2 %). Après stérilisation, refroidissement et séchage, elles sont ensemencées : en leur centre est déposé un cube de 4 à 5 mm de côté découpé dans des cultures en tubes des Champignons-tests âgées de 3 jours. Une incubation de 24 heures à 25° permet aux colonies de se développer selon des cercles de rayon $r_T$.

Nous déposons alors, aux 3 sommets d'un triangle équilatéral qui serait inscrit dans un cercle de 3 cm de rayon ayant pour centre celui de la boîte, une goutte de 1/20 ml de la substance à tester à la concentration désirée. Pour chaque substance est réalisée une série de solutions à concentrations variables.

Les boîtes sont remises à l'étuve à 25° et, 48 heures plus tard, chaque colonie est mesurée : R est la distance du centre de la boîte

---

FIG. 1. — Diverses formes revêtues par les colonies en présence de gouttes fongicides de concentrations variées. En noir : développement de la colonie au moment où sont déposées les gouttes. Forme de la colonie en présence d'une solution provoquant une répression forte (en hachures croisées), moyenne (en hachures simples), faible (en pointillés serrés), nulle (en pointillés lâches).
a. *Pythium splendens*.
b. *Fusarium roseum*.
c. *Thielaviopsis paradoxa*
en présence de dérivés des acides ortho, pyro et hypo-phosphoriques.
d. *Thielaviopsis paradoxa*
en présence de dérivés phénoliques phosphorylés.
e. *Sclerotium rolfsii*
en présence d'éthanol.
f. *Sclerotium rolfsii*
en présence de Tween 20.
(en tirets, bord de la colonie témoin ayant reçu de l'eau distillée.)

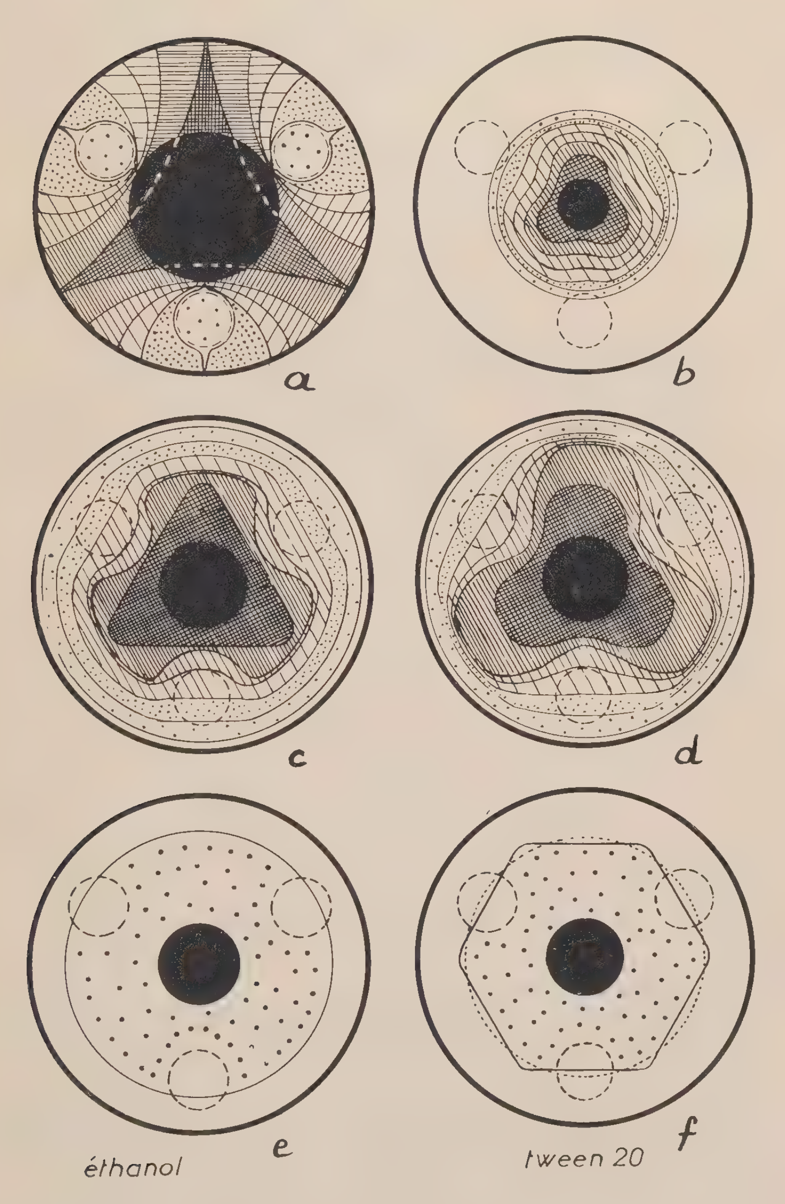



Fig. 1

aux 3 points de croissance maximale tandis que $r$ est la distance du centre de la boîte aux 3 points de croissance minimale. Les colonies témoins, n'ayant reçu aucune goutte fongicide, sont circulaires et d'un rayon $R_T$.

La comparaison de R, $r$, aux diverses concentrations avec $R_T$ et $r_T$ permet de définir pour chaque substance et chaque Champignon-test :

1) la concentration limite d'activité (pour laquelle $R = r = R_T$);
2) la dose léthale (pour laquelle $R = r = r_T$).

Par exemple, le comportement de trois des Champignons-tests a été examiné vis-à-vis de fongicides d'usage courant :

— le Thirame ou disulfure de tétraméthylthiurame;
— le sulfate neutre d'ortho-oxyquinoléine;
— le Zinèbe ou éthylène bis-dithiocarbamate de zinc.

Si nous calculons les concentrations limites d'activité en fonction de la teneur en matière active de chaque spécialité, nous pouvons dresser le tableau suivant qui montre la variation relative existant entre fongicide et Champignon :

| | *Pythium splendens* | *Fusarium roseum* f. *culmorum* | *Thielaviopsis paradoxa* |
|---|---|---|---|
| Thirame ...... | 0,05 % | <0,01 % | <0,01 % |
| Oxyquinol ..... | 0,02 % | 0,01 % | 0,05 % |
| Zinèbe ........ | 10,00 % | 0,20 % | 0,50 % |

**Spécificité de la forme des colonies**

La figure que revêt une colonie fongique est influencée par deux séries de facteurs :

---

Fig. 2. — Croissance du *Thielaviopsis paradoxa* en présence de dérivés de l'acide orthophosphorique.
En haut, à gauche : colonie le jour du dépôt des gouttes fongicides (le contour de celles-ci après leur étalement est représenté en tirets) ;
à droite : développement d'une colonie-témoin n'ayant reçu aucun fongicide.
Dans chaque colonne verticale est présenté le contour des colonies développées en présence des dérivés de l'acide orthophosphorique de numéros conventionnels 1740, 1718, 1741, 1736, respectivement aux concentrations 100 %, 50 %, 20 %, 10 %, 5 %.
L'examen de ces figures permet une comparaison facile de l'activité fongicide de ces corps.
N. B. : L'activité de 1718 concentré paraît supérieure à celle de 1741; en réalité, cette anomalie provient d'une diffusion difficile de 1741 aux concentrations élevées.

celle propre au Champignon, tels sa vitesse de croissance, son type de ramification mycélienne;

celle propre au produit chimique, telles sa nature, sa concentration, sa diffusion.

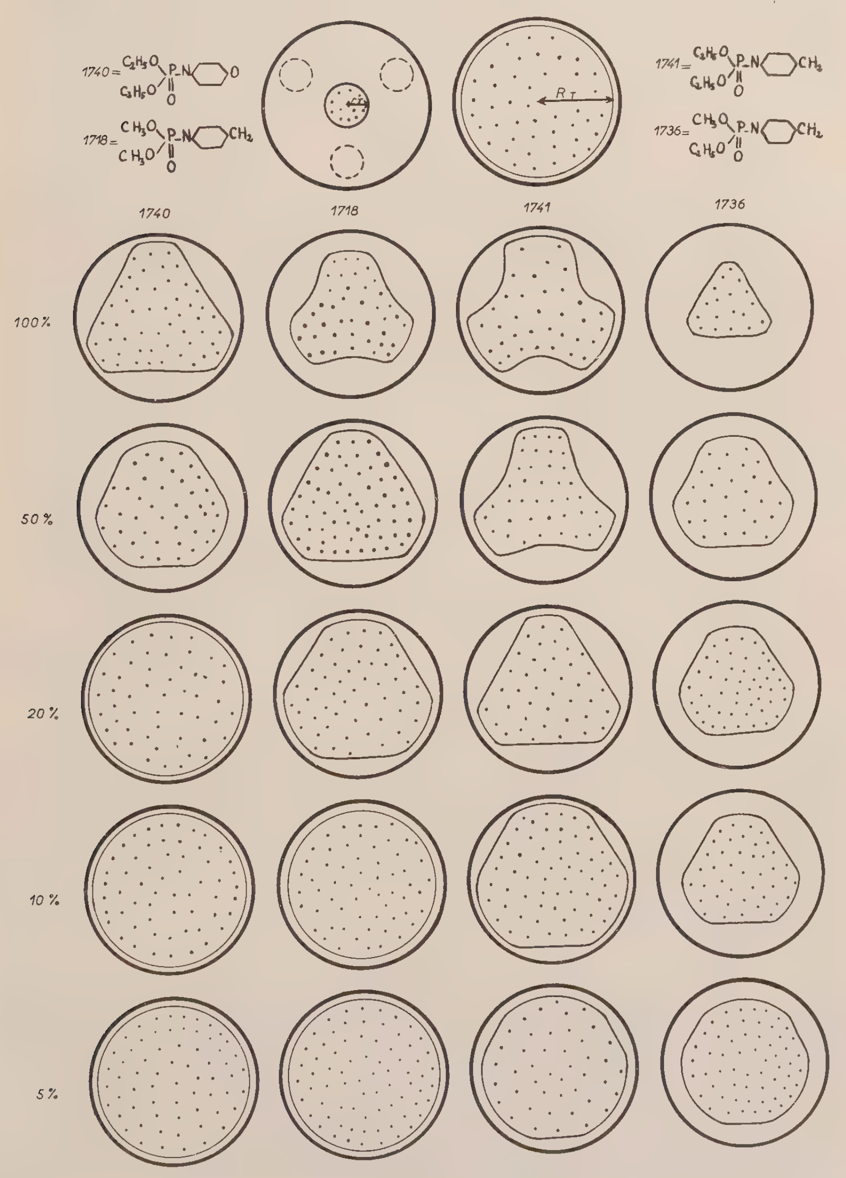



Fig. 2

***Comportement de deux espèces à croissance différente.***

Le *Pythium splendens*, dont la croissance est très rapide, est rarement inhibé totalement. Même aux concentrations les plus élevées, le grand rayon de ses colonies atteint souvent le témoin $R_T$ alors

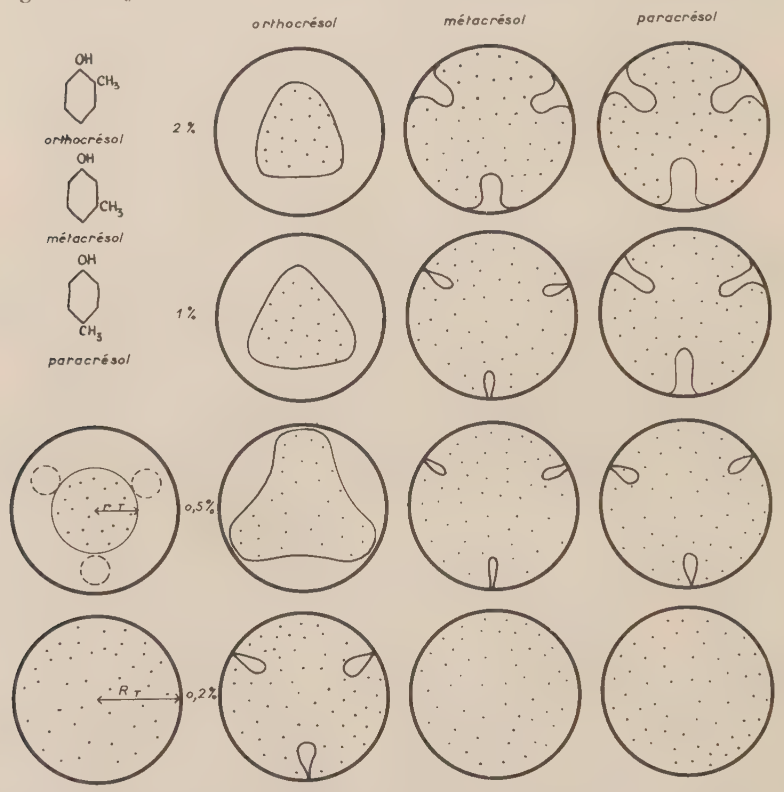



Fig. 3. — Croissance du *Rhizoctonia solani* en présence de l'orthocrésol, du métacrésol et du paracrésol.
A gauche : croissance du témoin.

qu'une lyse mycélienne se produit au niveau des gouttes si bien que le petit rayon devient inférieur au témoin $r_T$ : la colonie figure une étoile à trois branches (hachures croisées de la fig. 1, *a*). Les modifications provoquées sur le mycélium par des concentrations de plus en plus faibles sont représentées sur la même figure. A la zone limite d'activité, la goutte de fongicide est enserrée par le mycélium qui émet, pour l'envahir, des filaments régulièrement intriqués à la façon des écailles d'un jeune bourgeon qu'on examinerait en coupe.

Le *Fusarium roseum* f. *culmorum* qui, parmi les Champignons-tests retenus, possède la croissance la plus lente, présente des formes tout-à-fait différentes (fig. 1, *b*). Ainsi, le rayon témoin $R_T$ est, en fin d'expérience, inférieur à 30 mm, c'est-à-dire que le bord de la colonie n'atteint pas encore le centre des gouttes. S'il arrive de rencontrer des concentrations qui inhibent totalement la croissance, le plus souvent on note des inflexions plus ou moins importantes au niveau des gouttes. Vers la limite d'activité, les colonies sont souvent circulaires mais d'un rayon inférieur à celui du témoin.

***Comportement d'une espèce en présence de substances chimiques différentes.***

Les modifications de formes subies par une même espèce en présence de corps chimiques différents sont normalement moindres que celles observées d'un Champignon à l'autre vis-à-vis d'une même substance.

C'est ainsi que le *Thielaviopsis paradoxa* peut présenter deux familles de formes géométriques légèrement différentes (fig. 1, *c* et *d*).

Les colonies normalement circulaires du *Sclerotium rolfsii* Sacc., introduit récemment au nombre des Champignons-tests, deviennent hexagonales en présence du tween 20 à 5 % (fig. 1, *e, f*); nous supposons que ce solvant inhibe la croissance mycélienne au niveau des gouttes mais l'exalte à quelque distance.

**Comparaison de substances à structures chimiques voisines**

Les liens entre l'activité fongicide et la structure chimique de quelques dérivés des acides ortho- et pyrophosphoriques ont été établis (Moreau, 1961).

La figure 2 illustre par exemple la comparaison de quatre dérivés de l'acide orthophosphorique, ayant pour numéros conventionnels: 1740, 1718, 1741, 1736, à l'égard du *Thielaviopsis paradoxa.* On y observe que le corps 1740, à radical morpholine, est beaucoup moins toxique que son homologue 1741, à radical pipéridine. De même, le dérivé diméthylé 1718 est moins actif que le dérivé diéthylé 1741, lui-même moins puissant que le 1736 à formule dissymétrique méthyle-éthyle.

**Comparaison de corps isomères**

Nous avons éprouvé la sensibilité du test à l'égard de mono- et di-chloro-crésoxy-pentaéthylène glycols isomères ainsi que des crésols purs ayant servi à leur synthèse (Moreau M., 1961). Le *Rhizoctonia solani* s'est révélé ici le plus subtil sujet à différencier entre eux les divers produits.

Nous avons représenté quelques-unes de ses réactions à l'égard des crésols (fig. 3) qui se classent ainsi par toxicité décroissante : ortho,

para, méta. Les autres Champignons-tests se comportent de même, excepté le *Pythium* qui est plus sensible au métacrésol.

Dans la figure 4, la comparaison de deux isomères monochlorés de l'orthocrésol montre l'importance de la position du Cl sur le noyau. Les isomères dichlorés sont dans l'ensemble plus toxiques que les mono-; JR 37, dérivé du métacrésol, apparaît plus toxique que JR 40, dérivé du para-; cette contradiction avec l'action propre des crésols confirme le rôle important de la position relative des Cl sur le noyau.

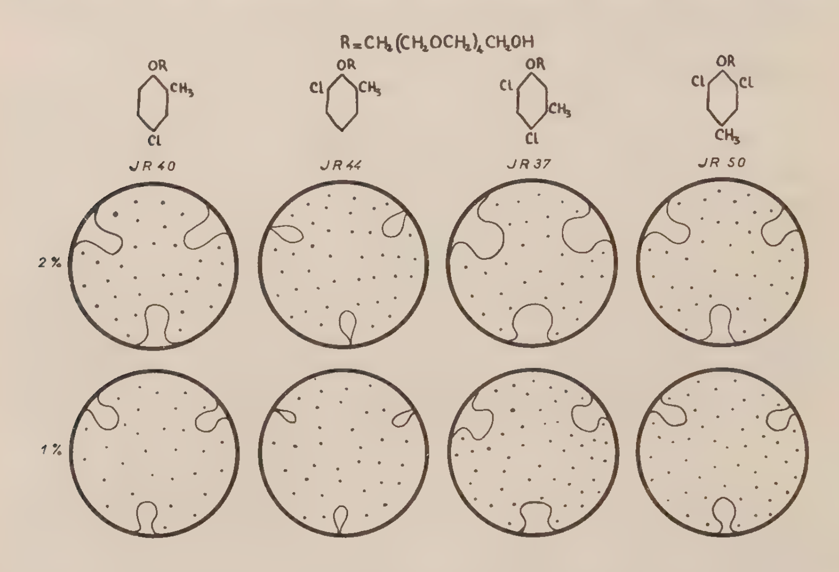



Fig. 4. — Croissance du *Rhizoctonia solani* en présence
à gauche : de dérivés monochlorés de l'orthocrésol;
à droite : de dérivés dichlorés du méta et du paracrésol.

**Rôle du solvant dans la toxicité d'un corps**

Dans un essai préliminaire auquel il a été fait allusion plus haut, l'action propre de divers solvants dits injectables (méthyl acétamide à 90 %, propylène glycol à 90 %; tween 20 à 5 %) a été éprouvée vis-à-vis des divers Champignons-tests en comparaison avec nos solvants habituels (eau et éthanol). Seule l'eau distillée est totalement inactive; l'éthanol freine très légèrement la croissance du *Fusarium* et du *Thielaviopsis* mais a une action non négligeable sur le *Rhizoctonia;* la méthyl acétamide est très toxique dans tous les cas. Le propylène glycol est sans action sur le *Fusarium*; il réduit légèrement le développement du *Thielaviopsis* et celui du *Sclerotium*; son action est plus marquée sur le *Rhizoctonia* et le *Pythium*. Le tween, sans action sur le

*Rhizoctonia* et le *Pythium,* altère grandement la forme des autres espèces.

Nous avons alors utilisé des dérivés de l'acide pyrophosphorique dont l'action des solutions aqueuses et alcooliques était connue. L'action du même ester-phosphorique sur le *Sclerotium rolfsii* est représentée, solubilisé soit dans le tween 20 (fig. 5, *a*), soit dans le propylène glycol (fig. 5, *b*); les différences de formes montrent clairement l'interférence de l'activité des solvants dans le résultat final.

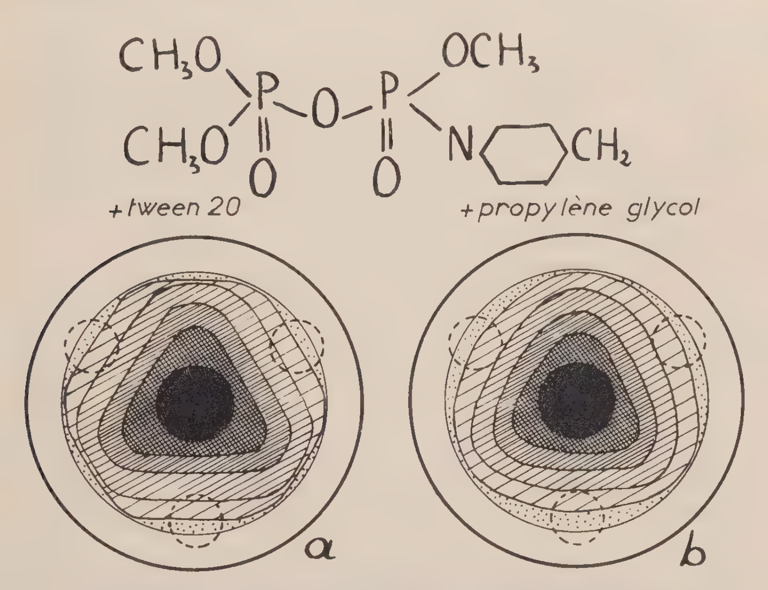



Fig. 5. — Croissance du *Sclerotium rolfsii* en présence d'un dérivé de l'acide pyrophosphorique en solution dans le Tween 20 (a), dans le propylène glycol (b).
En noir : développement de la colonie au moment où sont déposées les gouttes. Forme de la colonie en présence d'une solution
à 50 % : hachures croisées serrées;
à 10 % : hachures croisées lâches;
à 2 % : hachures simples serrées;
à 0,2 % : hachures simples et lâches;
<0,2 % et témoins : pointillés;
en tirets : emplacement des gouttes.

Un autre exemple est fourni (fig. 6) par l'observation des colonies du *Pythium splendens* en présence de solution à 10 % de 2 esters phosphoriques : 4032 à radical morpholine et 4033 à radical pipéridine. La répression subie par les cultures est à peine comparable. Dans les 3 premiers cas, 4033 paraît plus toxique que 4032, mais, les divers solvants modifiant la tension superficielle et la diffusion dans le milieu gélosé des corps à étudier, les limites d'activité sont diffé-

rentes. Ainsi, l'activité de 2 corps n'est comparable seulement qu'en présence du même solvant.

La mise en solution dans le propylène glycol impose au contraire au *Pythium* deux figures superposables vis-à-vis de 4032 et 4033; c'est que la toxicité propre de ce solvant masque les effets des corps solubilisés.

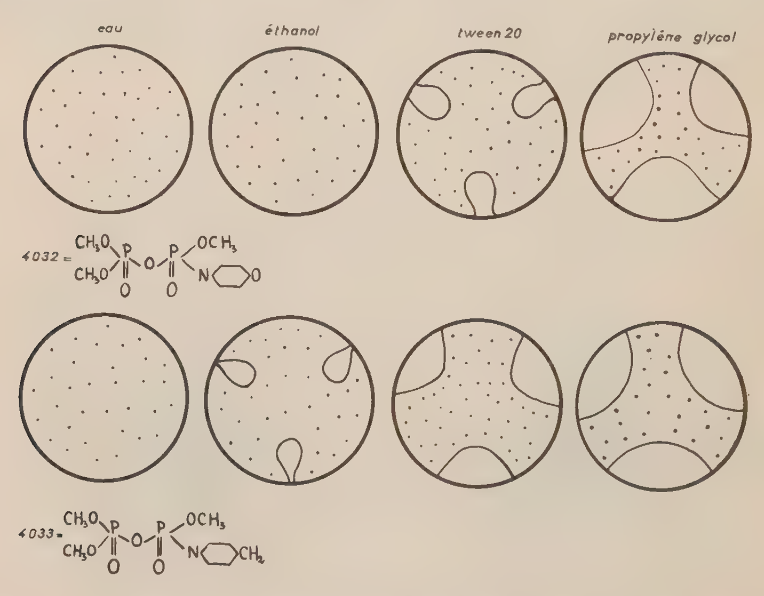



Fig. 6. — Croissance du *Pythium splendens* en présence de deux dérivés de l'acide pyrophosphorique de numéros conventionnels 4032 et 4033 en solution à 10 % dans l'eau, l'éthanol, le Tween 20 et le propylène glycol.

## Conclusions

Nous avons illustré dans cet article les résultats suffisamment précis que pouvait donner un test biologique sur l'activité de produits chimiquement proches.

Des solvants appelés « injectables » se sont révélés d'une toxicité non négligeables vis-à-vis de certains des Champignons, alors qu'ils étaient inactifs sur les autres. L'eau est le seul solvant biologiquement neutre, l'alcool éthylique est celui qui le remplace le plus avantageusement. Les autres doivent être choisis en fonction des Champignons retenus.

## BIBLIOGRAPHIE

CHEYMOL J., CHABRIER P., MURAD J. et SELIM M. — Contribution à l'étude chimique et pharmacologique des dérivés de l'acide orthophosphorique III. Constitution chimique et activité anticholinestérasique. *Thérapie*, t. XV, p. 237-241, 1960.

CHEYMOL J., CHABRIER P., MURAD J. et SELIM M. — IV. Etude pharmacologique comparée de deux triesters homologues : phosphate de diméthylpropargyl et phosphate de diéthylpropargyl. *Thérapie*, t. XV, p. 242-246, 1960.

CHEYMOL J., CHABRIER P., BEAUVALLET M., SELIM M. et THANG THUONG N. — V. Constitution chimique et activité anticholinestérasique de quelques phosphoramides. *Thérapie*, t. XVI, p. 28-33, 1961.

MOREAU C. — Comparaison des pouvoirs fongicides de quelques dérivés minéraux et organiques du Bore. *Bull. Res. Counc. Israël*, Sect. D, Botany, t. X, p. 211-218, 5 graph., juil. 1961.

MOREAU M. — Activité comparée de corps isomères : examen de quelques dérivés chlorés des crésols. *C. R. Acad. Sci.*, t. 253, fasc. 15, p. 1611-1612, oct. 1961.

MOREAU C. et M. — Technique simple de comparaison du pouvoir fongicide de diverses substances : mesure de l'action répressive sur la phase linéaire de croissance. *Rev. de Mycol.*, t. XXIV, fasc. 1, p. 59-64, 3 fig., pl. II, mars 1959.

MOREAU C. et M. — Inhibition de la croissance du *Fusarium oxysporum* Schl. par divers fongicides organiques. *Rev. de Mycol.*, t. XXV, fasc. 5, p. 306-309, 2 diag., 1960.

MOREAU C. et M. — Mesure de l'activité fongicide comparée de substances à structures chimiques voisines. Première application à quelques dérivés organo-phosphorés. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, t. LXXVII, fasc. 3, p. 273-287, 3 fig., 2 tabl., 1961.

*(Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.)*

# Recherches sur les genres *Alternaria* et *Stemphylium*

## I. — Rapports entre la nutrition azotée, le pH et la vie anaérobie

Par Patrick JOLY

■

Résumé

L'azote ammoniacal est consommé au même titre que l'azote nitrique, tant que le pH du milieu de culture ne s'abaisse pas au-dessous d'une valeur critique, voisine de pH : 3,2. L'abaissement du pH au-dessous de ce seuil entraîne l'apparition des caractères morphologiques liés à la vie anaérobie. Toutes les espèces d'*Alternaria* et les *Pseudo-Stemphylium* étudiés ici réagissent de façon uniforme à l'alimentation azotée minérale et aux variations du pH. Les résultats obtenus avec l'azote organique (urée et oxamide) sont moins constants.

### La nutrition azotée des Champignons

La nutrition azotée des Champignons supérieurs est un facteur important de leur comportement sur milieux synthétiques : si Raper et Thom (1949), décrivant le *Penicillium digitatum* Sacc., écrivent (p. 386) : « les membres de la série *digitatum* sont caractérisés par leur faible croissance et leur sporulation peu abondante sur milieu gélosé de Czapek... », cela provient simplement du fait que ce Champignon n'utilise pas les nitrates (Fergus, 1952) et que la seule source d'azote apportée par la solution de Czapek est le nitrate de sodium. D'une diversité extrême, les besoins azotés varient d'une espèce à l'autre : Volkonsky (1934) a pu montrer que le *Beauveria globulifera* (Speg.) Picard consomme les nitrates, alors que le *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillem. ne les utilise pas. Mix (1953) est allé beaucoup plus loin : travaillant sur plusieurs espèces de *Taphrina*, il note des variations dans l'absorption de divers composés azotés, minéraux ou organiques, et conclut : « il paraît possible de différencier les espèces de *Taphrina* en culture sur la base de leur utilisation ou non utilisation de divers composés azotés ».

On comprendra aisément que les nombreuses recherches effectuées sur les formes d'azote utilisables aient donné des résultats variables, voire même contradictoires, selon les espèces étudiées. Beaucoup consomment à la fois l'azote organique et l'azote minéral, mais on observe souvent une préférence marquée pour l'un ou l'autre de ces modes d'alimentation. Ward et Henry (1961), étudiant le comportement des *Trichoderma viride* Pers., *Trichocladium asperum* Harz, *Ophiobolus graminis* Sacc. et *Ungulina annosa* (Fr.) Pat., remarquent que les deux premiers, saprophytes, se développent bien sur un milieu contenant du nitrate de potassium, alors que les deux autres, parasites, préfèrent l'azote organique. Thind et Randhawa (1957) constatent qu'un autre Champignon phytopathogène, le *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butl. et Bisby, préfère également l'azote organique, mais il ne semble pas que l'on puisse en tirer une règle générale. D'ailleurs, Thind et Rawla (1959), étudiant plusieurs *Colletotrichum* et *Gloeosporium*, mentionnent qu'ils consomment bien les deux formes d'azote.

Il existe une multitude de sources organiques d'azote, plus ou moins utilisables suivant les espèces. Un groupe important est celui des acides aminés. Certains constituent le plus souvent un mauvais aliment azoté pour les Champignons, comme la L-leucine (Grewal, 1955; Strider et Winstead, 1960). Il en est de même pour les acides aminés soufrés : L-cystine (Thind et Rawla, 1959; Wolf, 1953), L-cystéine (Strider et Winstead, 1960; Wolf, 1953) et méthionine (Grewal, 1955, Strider et Winstead, 1960); mais on rencontre des exceptions, et Wolf cite la méthionine comme constituant un aliment relativement bon pour l'*Ustilago maydis* (D C) Corda. La plupart des autres acides aminés ont des actions très variables : l'acide aspartique, par exemple, qui donne de bons résultats avec l'*Alternaria tenuis* auct. (Grewal, 1955), le *Taphrina caerulescens* (Mont. et Desmaz.) Tul. et divers autres *Taphrina* (Mix, 1953), l'*Ustilago maydis* (D C) Cda. (Wolf, 1953), etc. constitue un très mauvais aliment pour le *Curvularia penniseti* (Mitra) Boedijn (Agarwal, 1958). Beaucoup plus intéressantes sont les amides des acides monoaminodicarboxyliques, la glutamine et surtout l'asparagine, qui constitue la meilleure des sources d'azote polyvalentes, convenant à un grand nombre d'espèces (Agarwal, 1958; Fergus, 1952; Grewal, 1955; Mix, 1953; Neergaard, 1945; Newton, 1946; Wolf, 1953). Le groupe des amides possède encore une substance polyvalente, l'urée (Agarwal, 1958; Fergus, 1952; Grewal, 1955; Mix, 1953); l'acétamide a donné de bons résultats avec l'*Alternaria tenuis* (Grewal, 1955; Srivastava, 1951).

Parmi les corps de formules plus complexes, les peptones ont été largement utilisées, mais elles ne conviennent pas à tous les Champignons, et leur emploi tend à se limiter à certains groupes (Levures, Dermatophytes, etc.). La caséine, souvent médiocre (Strider et Winstead, 1960), peut, après hydrolyse, constituer un bon apport d'azote

et stimuler la croissance (Macleod, 1960; Lilly et Barnett, 1951; Timnick, Lilly et Barnett, 1951); dans ce cas, il est vraisemblable, comme le fait remarquer Macleod, qu'il y ait une intervention de facteurs de croissance, existant à l'état d'impuretés ou libérés lors de l'hydrolyse, et non une simple action de la nature de l'élément azoté.

Les formes d'azote minéral sont beaucoup moins nombreuses : deux seulement sont couramment utilisées, les ions nitrique et ammoniacal. L'azote nitreux, très mal consommé, présente généralement peu d'intérêt. Grewal (1955) le cite comme non utilisé par l'*Alternaria tenuis*, mais il peut permettre une certaine croissance chez quelques

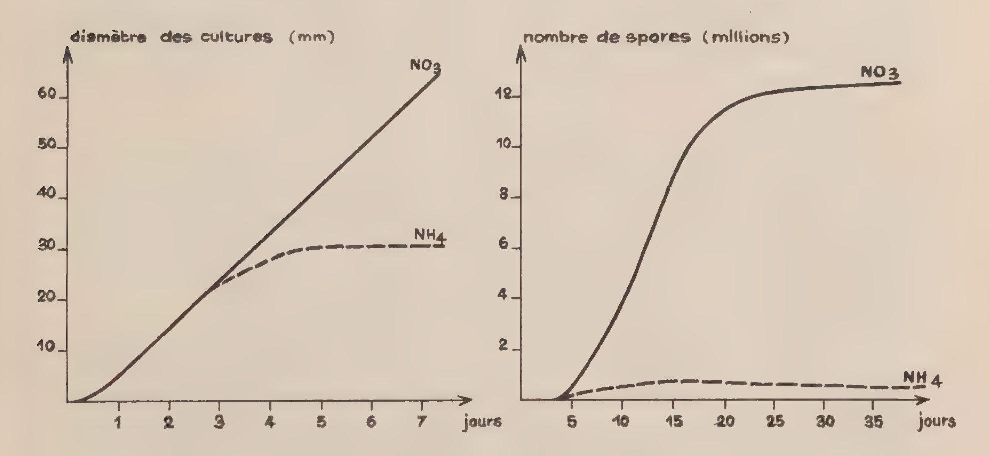



Fig. 1. — Croissance et sporulation de l'*Alternaria tenuis* en fonction de l'alimentation azotée minérale.

souches d'*Alternaria*. Le comportement des diverses espèces vis-à-vis de l'alimentation azotée minérale est beaucoup plus homogène que ne l'est la consommation de l'azote organique.

### Consommation de l'azote minéral

Les diverses espèces des genres *Alternaria* Nees et *Stemphylium* Wallr. poussent correctement sur le milieu de Czapek. En modifiant légèrement sa composition, on peut comparer l'action des ions nitriques à celle des ions ammoniacaux. Le sucre utilisé est le fructose, qui constitue la meilleure alimentation carbonée pour ces Champignons (Joly, 1962). La modification la plus simple consiste à substituer un sel ammoniacal au nitrate de sodium, en tenant compte des poids moléculaires respectifs et, éventuellement, de l'eau de cristallisation des deux sels employés : il convient de fournir la même quantité

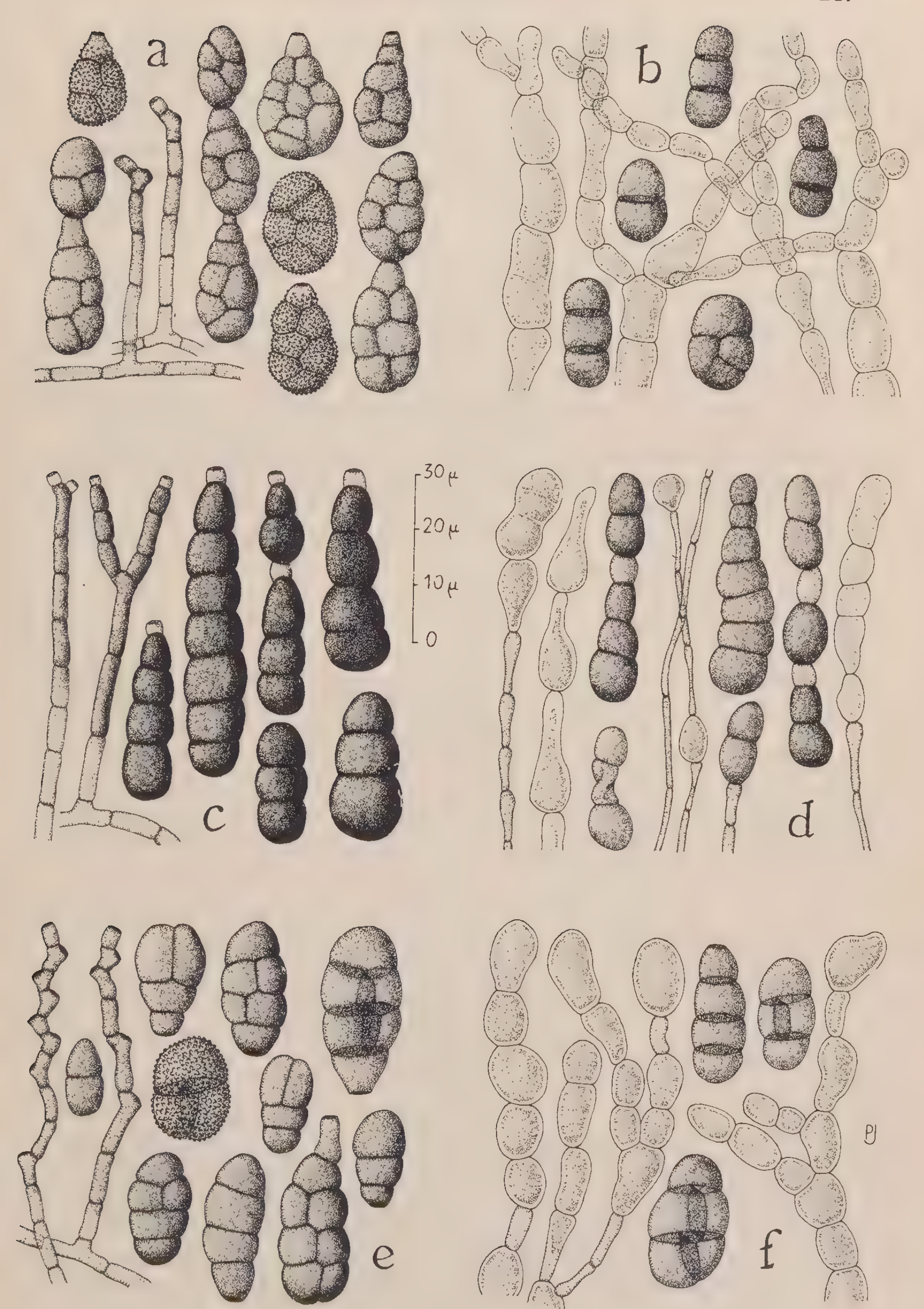
d'azote aux divers milieux de culture à comparer. A la solution de base, composée de $PO_4 HK_2 = 1$ g; $SO_4 Mg$, 7 $H_2 O = 0,50$ g; Cl K $= 0,50$ g; $SO_4 Fe$, 7 $H_2 O$ = traces; fructose = 50 g par litre d'eau, on ajoute soit $NO_3 Na = 2$ g, soit $SO_4 (NH_4)_2$, 6 $H_2 O = 2,90$ g.

La croissance et la sporulation de l'*Alternaria tenuis* auct. sur ces deux milieux sont totalement différentes (fig. 1). Alors qu'avec une alimentation azotée nitrique, le Champignon se développe normalement et sporule bien, avec une alimentation ammoniacale, la croissance s'amorce mais s'arrête très vite (3 jours). L'allure des courbes de sporulation est encore plus nette : l'azote ammoniacal ne permet qu'une sporulation réduite et éphémère. On obtient des courbes semblables avec l'*Alternaria citri* (Ell. et Pierce) Bliss et Faurett, l'*Alternaria oleracea* Milbr., le *Stemphylium consortiale* (Thüm.) Gr. et Sk., le *Stemphylium dendriticum* de S. da Cam., et pour les courbes de croissance seulement, avec des souches stériles de l'*Alternaria dauci* f. sp. *solani* (Ell. et Mart.) Gr. et Sk. et du *Stemphylium botryosum* Wallr. De tels résultats sont en accord avec la constatation de Newton (1946) qui, travaillant avec l'*Alternaria dauci* f. sp. *solani*, affirme que la substitution d'ammonium au nitrate inhibe considérablement la croissance. Grewal (1955) établit également que certains sels d'ammonium (sulfate, bromure, chlorure, monophosphate) constituent une mauvaise source d'azote pour l'*Alternaria tenuis*.

Morphologiquement (fig. 2), l'aspect des deux sortes de cultures est très différent. Sur le milieu au nitrate, elles présentent leurs aspects macroscopiques habituels. Le mycélium aérien se compose d'éléments cylindriques, hyalins ou colorés en brun, comme les conidiophores. On trouve chez certaines souches quelques rares éléments ampulliformes intercalés dans les hyphes bruns. Les conidiophores sont normaux, de même que les spores. Le mycélium profond montre des hyphes plus fins, abondamment ramifiés et intriqués. Ils forment un réseau assez serré, noyé dans une masse mucilagineuse, comme en présentent toujours ces espèces cultivées sur des milieux liquides. Les hyphes sont uniformément brun clair, mais le pigment diffuse peu dans le milieu de culture. Toutes les colonies présentent pratiquement leur morphologie normale, telle qu'on peut l'observer sur les milieux dits « naturels ». Sur le milieu au sulfate d'ammonium, les cultures sont très restreintes et prennent macroscopiquement une coloration rosâtre. Les hyphes aériens sont hyalins, plus fins, entremêlés et parse-

---

Fig. 2. — Evolution de la morphologie en fonction de la nutrition azotée :
*Alternaria tenuis :* a : sur milieu au nitrate de sodium
*Alternaria tenuis :* b : sur milieu au sulfate d'ammonium
*Alternaria oleracea :* c : sur milieu au nitrate de sodium
*Alternaria oleracea :* d : sur milieu au sulfate d'ammonium
*Stemphylium consortiale :* e : sur milieu au nitrate de sodium
*Stemphylium consortiale :* f : sur milieu au sulfate d'ammonium


a
b
30 µ
20 µ
10 µ
0
c
d
e
f
PJ

més d'un nombre appréciable d'éléments globuleux, terminaux ou intercalaires, à membrane épaisse mais peu rigide. Les spores sont rares. Les éléments submergés, hyalins ou jaune clair, sont enlacés et anastomosés en un réseau très serré; ils sont noyés dans un mucilage rose qui peut, en se desséchant, former des plaques ou des croûtes rougeâtres sur les hyphes élevés au-dessus de la surface du liquide. Sur ces mêmes milieux gélosés, on observe des évolutions identiques. Enfin, les pH des milieux de culture contenant du sulfate d'ammonium se situaient, au bout de 28 jours entre 1,2 et 2,5. Le fait n'est guère surprenant si l'on considère qu'en utilisant les ions $NH_4^+$, les Champignons laissent dans le milieu liquide les ions $SO_4^{--}$ qui, avec les acides organiques excrétés, contribuent à acidifier le milieu.

### Nutrition azotée et pH

Les modifications du pH viennent interférer avec l'action propre de la nature de l'aliment azoté. C'est là un élément d'imprécision dans nos premiers résultats. Il en existe d'ailleurs un autre. La nutrition azotée minérale se fait soit par l'absorption d'ions $NO_3^-$, soit par celle

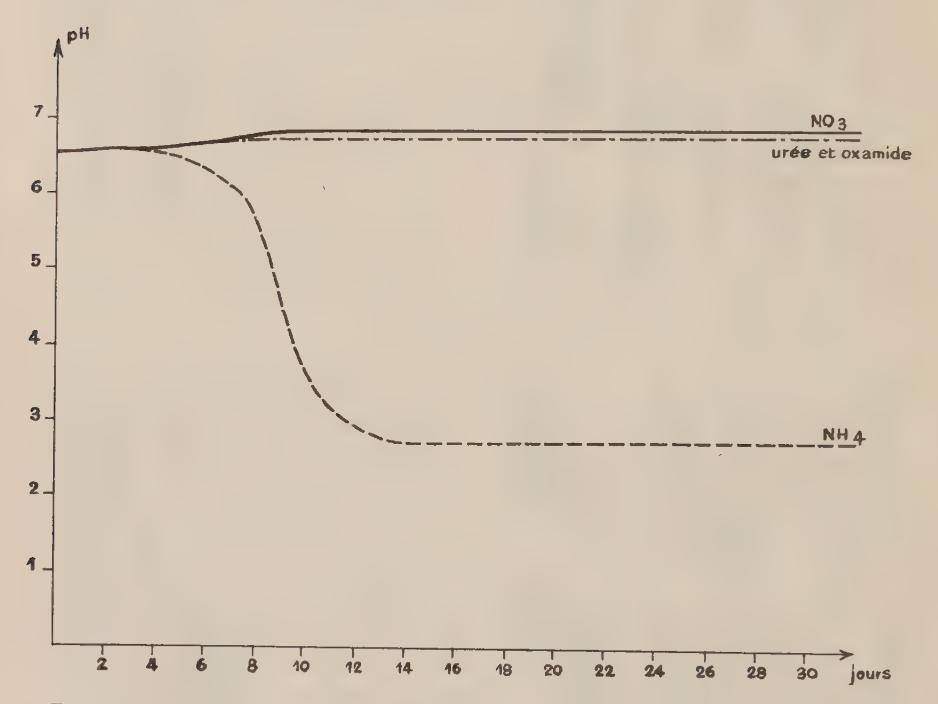



Fig. 3. — *Alternaria citri :* évolution des pH des milieux de culture en fonction de l'alimentation azotée.

d'ions $NH_4^+$. La substitution du sulfate d'ammonium au nitrate de sodium n'a pas seulement changé la nature de l'ion azoté, elle a entraîné des modifications dans l'équilibre ionique de la solution : les proportions d'ions $SO_4^{--}$ ne sont plus les mêmes, le milieu ammoniacal en contenant plus que le milieu nitrique; de plus, nous avons créé une différence dans la nature même des ions en présence : si le second milieu renferme un nombre appréciable d'ions $Na^+$, introduits par le nitrate de sodium, le premier n'en contient pas (du moins théoriquement). La nature des ions qui entrent dans la composition d'un milieu de culture ne doit pas être négligée : Terroine et Wurmser (1922) ont pu montrer que, dans le cas de l'*Aspergillus niger* v. Tiegh., les ions $NO_3^-$ étaient plus facilement consommés lorsqu'on les incorporait au milieu sous forme d'acide nitrique que lorsqu'ils y étaient introduits sous la forme de nitrates.

Pour remédier à ces inconvénients, nous avons dû modifier les milieux. En les tamponnant, on atténuera les variations du pH. Nous avons utilisé un tampon aux phosphates, qui est métabolisé dans des proportions moindres que les tampons à base d'acides organiques. D'autre part, nous avons ajouté du chlorure de sodium pour éliminer les différences dans la nature des ions apportés. Il ne subsistera que des différences dans les proportions de ces ions, ce qui est ici inévitable. Le milieu se compose de $PO_4H_2K = 2,25$ g; $PO_4HK_2 = 2,75$ g; $SO_4Mg, 7\ H_2O = 0,50$ g; $ClNa = 0,50$ g; $SO_4Fe, 7\ H_2O =$ traces; fructose = 50 g par litre d'eau. On y ajoute $NO_3Na = 2$ g ou $SO_4(NH_4)_2, 6\ H_2O = 2,9$ g, soit encore une source d'azote organique, $CO(NH_2)_2$ (urée) = 0,7 g ou $CONH_2 - CONH_2$ (oxamide) = 1,0 g.

Sur un tel milieu, c'est l'urée qui donne les meilleurs résultats, tant pour la croissance que pour la sporulation chez les *Alternaria citri, A. oleracea, A. tenuis, Stemphylium consortiale* et *S. dendriticum*. Seul le *S. botryosum* lui préfère les nitrates. L'oxamide donne éga-

TABLEAU I

*Taux de sporulation de quelques espèces en fonction de l'alimentation azotée*
(en millions de spores par Erlemeyer)

| | $NO_3Na$ | $SO_4(NH_4)_2$ | Urée | Oxamide |
|---|---|---|---|---|
| *Alternaria tenuis* ......... | 12,0 | 0,7 | 13,3 | 7,5 |
| *Alternaria citri* .......... | 16,5 | 0,6 | 37,4 | 14,7 |
| *Alternaria oleracea* ....... | 166,0 | 4,2 | 256,0 | 243,0 |
| *Stemphylium consortiale* .. | 75,3 | 5,6 | 187,0 | 181,0 |
| *Stemphylium dendriticum* . | 108,0 | 6,4 | 149,0 | 132,0 |
| *Stemphylium botryosum* .. | 1,0 | $\simeq 0$ | 0,4 | 0,2 |

lement de bons résultats; de valeur analogue à celle des nitrates sur la croissance, elle permet une sporulation bien meilleure pour l'*A. oleracea* et les *Pseudo-Stemphylium* (*S. consortiale* et *S. dendriticum*); elle convient moins aux *Alternaria* du groupe *tenuis* (*A. tenuis* vrai et *A. citri*), et peu au *S. botryosum*.

Le milieu au sulfate d'ammonium constitue encore un très mauvais milieu pour la sporulation : elle y est, pour toutes les espèces étudiées, négligeable par rapport à leur taux de sporulation sur les autres milieux. Le pH, comme le montre la fig. 3, a encore considérablement baissé, mais le mélange tampon en a ralenti la chute et ce n'est qu'aux alentours d'une dizaine de jours qu'il atteint une valeur voisine de pH = 3, au lieu de 3 jours comme sur le milieu non tamponné. On dispose d'une durée suffisante pour étudier le comportement des Champignons, avant que le milieu n'atteigne une valeur aussi basse.

Tableau II

*Evolution en fonction du temps du poids de matière sèche produit par l'*Alternaria citri *et celle du pH de la solution nutritive dans le cas des deux milieux contenant une alimentation azotée minérale*

| | Azote Nitrique | | Azote Ammoniacal | |
|---|---|---|---|---|
| | pH | Poids mycélien | pH | Poids mycélien |
| Au repiquage | 6,6 | | 6,6 | |
| à 96 h | 6,6 | 0,191 g ± 0,022 | 6,6 | 0,183 g ± 0,022 |
| à 191 h | 6,9 | 0,649 g ± 0,033 | 6,0 | 0,672 g ± 0,034 |
| à 268 h | 6,9 | 1,348 g ± 0,041 | 3,1 | 0,915 g ± 0,032 |
| à 311 h | 6,9 | — | 2,8 | — |
| à 359 h | 6,9 | 1,450 g ± 0,042 | 2,7 | 0,869 g ± 0,036 |
| à 431 h | 7,0 | 2,189 g ± 0,054 | 2,6 | 0,800 g ± 0,036 |
| à 479 h | 6,9 | 1,726 g ± 0,046 | 2,6 | 0,725 g ± 0,032 |
| à 527 h | 6,9 | 1,648 g ± 0,041 | 2,7 | 0,711 g ± 0,029 |
| à 599 h | 6,9 | 1,829 g ± 0,044 | 2,6 | 0,682 g ± 0,030 |
| à 671 h | 6,8 | 1,603 g ± 0,041 | 2,6 | 0,738 g ± 0,030 |
| à 719 h | 6,8 | 1,621 g ± 0,055 | 2,7 | 0,578 g ± 0,040 |
| à 791 h | 6,9 | 1,521 g ± 0,041 | 3,0 | 0,547 g ± 0,027 |
| à 847 h | 6,9 | 1,505 g ± 0,040 | 2,8 | 6,611 g ± 0,027 |
| à 983 h | 6,9 | 1,681 g ± 0,044 | 2,8 | 0,528 g ± 0,028 |
| à 1103 h | 6,8 | 1,662 g ± 0,043 | 2,9 | 0,526 g ± 0,028 |
| à 1559 h | 6,7 | 1,438 g ± 0,038 | 3,1 | 0,507 g ± 0,036 |
| à 2375 h | 6,7 | 1,138 g ± 0,017 | 2,9 | 0,468 g ± 0,019 |

Ainsi que le montre le tableau II, jusque vers le dixième jour (240 h), moment où le pH atteint une valeur voisine de pH = 3, les poids de matière sèche produite sur le milieu contenant de l'azote ammoniacal sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus sur le milieu nitrique. Il en est de même pour les vitesses de croissance.

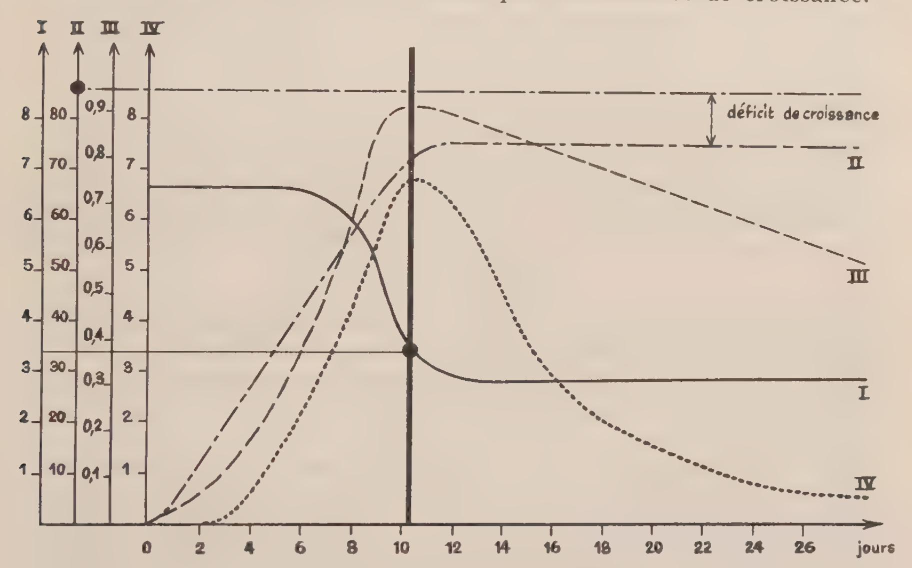



Fig. 4. — Evolution des principales caractéristiques de l'*Alternaria citri* sur milieu tamponné contenant du sulfate d'ammonium :

I : Variation du pH du milieu en fonction de l'âge des cultures (sur milieu liquide) ;

II : Diamètre des cultures (en mm) sur milieu gélosé (diamètre maximum utilisable : 85 mm) ;

III : Poids sec des cultures (en g par Erlenmeyer) sur milieu liquide;

IV : Taux de sporulation (nombre de spores, en millions par Erlenmeyer)

Tableau III

*Diamètres des cultures sur des milieux gélosés avec diverses sources d'azote, 7 jours après le repiquage*

| | $NO_3$ Na | $SO_4(NH_4)_2$ | Urée | Oxamide |
|---|---|---|---|---|
| *Alternaria tenuis* ......... | 62,1 mm | 63,2 mm | 74,3 mm | 64,5 mm |
| *Alternaria citri* .......... | 62,0 mm | 65,9 mm | 74,6 mm | 67,8 mm |
| *Alternaria oleracea* ....... | 50,3 mm | 48,8 mm | 62,2 mm | 51,2 mm |
| *Stemphylium consortiale* . | 58,3 mm | 57,0 mm | 63,1 mm | 56,1 mm |
| *Stemphylium dendriticum* | 66,2 mm | 68,6 mm | 63,6 mm | 57,8 mm |
| *Stemphylium botryosum* .. | 57,4 mm | 57,7 mm | 61,4 mm | 53,0 mm |

Ce n'est que lorsque le pH franchit cette valeur que les différentes courbes caractéristiques des espèces changent de direction (fig. 4). Pour une valeur du pH légèrement supérieure à 3, il existe un point critique pour le développement de ces Champignons. Au-dessus de cette valeur, la croissance et la sporulation évoluent normalement; la morphologie des hyphes, des conidiophores et celle des spores sont également normales. A partir du pH $\simeq$ 3,2 et pour les valeurs inférieures, la croissance devient très lente ou s'arrête, la sporulation cesse. Les cultures deviennent rosâtres, produisent des éléments globuleux. Les hyphes montrent une forte tendance à s'anastomoser et à émettre des cellules isolées. On observe également quelques éléments volumineux, multicloisonnés, simulant des ébauches de pycnides, mais nous n'avons jamais observé de pycnides fonctionnelles sur les milieux acides.

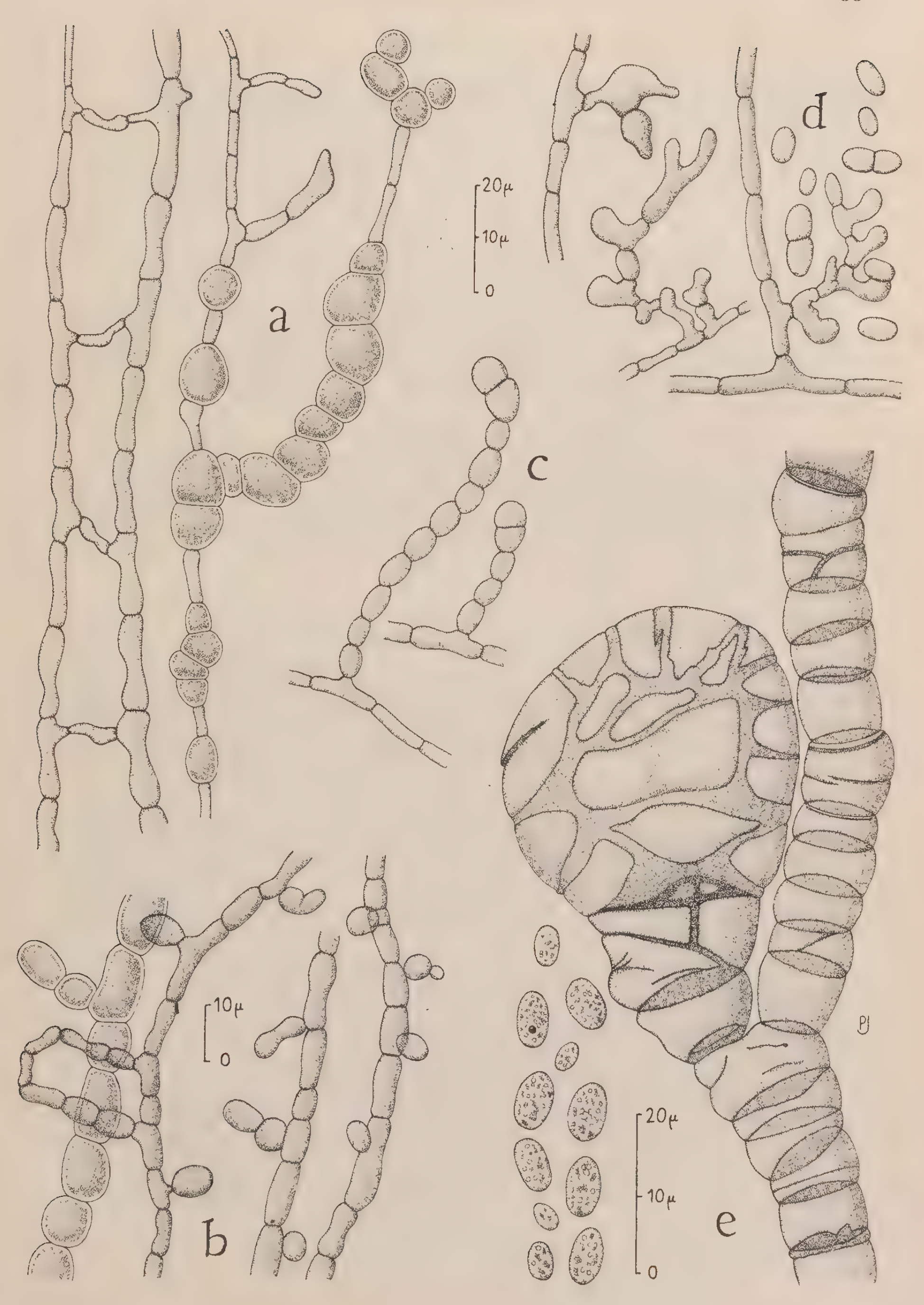
**pH et anaérobiose**

L'action morphogène constatée est uniquement le fait du pH bas. Nous avons pu le vérifier en cultivant *Alternaria tenuis, A. citri, A. dianthi, A. dauci* f. sp. *solani* et *Stemphylium consortiale* sur un milieu de Czapek au nitrate de sodium, acidifié avec de l'acide malique à un pH initial de 3,5. Dans ce cas, les Champignons se développent peu en surface du liquide; ils restent en profondeur, sous la forme de petites colonies séparées, floconneuses, blanches ou rosâtres, à croissance lente. Leur mycélium (fig. 5, *a*) ramifié et anastomosé, contient de nombreux éléments globuleux; on retrouve des figures analogues à celles observées sur les milieux minéraux contenant du sulfate d'ammonium. Si l'on gélose fortement ce milieu, l'agar-agar est partiellement hydrolysé lors de la stérilisation, effectuée à la vapeur fluente; mais on obtient un gel fragile, en surface duquel une partie des hyphes restent aériens. Ces derniers présentent alors une morphologie presque normale. Si l'on stérilise à 115° ce même milieu, la gélose est complètement hydrolysée et l'on retrouve des résultats analogues à ceux obtenus sur le milieu liquide, non gélosé.

La liaison qui existe, pour une valeur du pH voisine du point critique, entre la position aérienne ou submergée du mycélium et son

---

Fig. 5. — a : anastomoses mycéliennes et production d'éléments globuleux par l'*Alternaria citri* cultivé sur un milieu acidifié à l'acide malique;
b : anastomoses, éléments globuleux et émissions de cellules isolées par l'*Alternaria citri* en culture anaérobie sur lame;
c : production de chaînes de cellules dissociables par le *Stemphylium consortiale* en culture anaérobie sur lame;
d : production de becs latéraux et émissions de cellules isolées par le *Stemphylium consortiale* en culture anaérobie sur lame;
e : pycnide et pycnospores produites par l'*Alternaria citri* en culture anaérobie sur lame.


a
b
c
d
e
20μ
10μ
0
10μ
0
20μ
10μ
0

aspect morphologique, laisse penser à une action indirecte du pH par l'intermédiaire des phénomènes respiratoires : au-dessous du seuil critique de pH = 3, une des réactions de la respiration se trouverait bloquée : les Champignons survivent en fermentation.

De fait, en recouvrant d'eau stérile des cultures gélosées âgées de quatre jours, elles modifient leur aspect, deviennent rougeâtres, forment des hyphes fins, entremêlés et fortement anastomosés, parsemés d'éléments globuleux. En scellant à la flamme, aussitôt après l'ensemencement avec l'*Alternaria citri*, les extrémités de tubes à croissance continue de 40 cm de long, les cultures croissent normalement à la vitesse de 201,1 - 202,3 μ/h pendant une durée de 360 à 670 h; lorsque la provision d'oxygène a été épuisée, la croissance cesse, et elles évoluent comme les cultures immergées et les cultures sur milieu au sulfate d'ammonium.

On peut étudier le passage progressif de la vie aérobie à la vie anaérobie en réalisant des cultures sur lame. On ensemence une goutte de milieu gélosé, que l'on recouvre d'une lamelle stérile avant qu'elle ne soit solidifiée, et on lute les bords de la lamelle à la paraffine. Nous avons expérimenté avec l'*Alternaria citri*, l'*A. dianthi* et le *Stemphylium consortiale*.

Pour obtenir un premier développement de la microculture sous une forme aérobie, il convient d'ajouter au milieu un peu d'eau oxygénée ou du bleu de méthylène à 0,5 parties par million. La spore germe normalement, en formant d'abord des cellules globuleuses, qui donnent rapidement des hyphes à éléments cylindriques, caractéristiques de la vie aérobie. Puis la structure s'altère, les articles redeviennent globuleux, les hyphes ont tendance à s'anastomoser. On trouve également des émissions de cellules isolées (fig. 5, *b*) ou en chaînes (fig. 5, *c*) et des formations de becs latéraux plus ou moins dendroïdes (fig. 5, *d*). Ces deux dernières structures ressemblent à celles décrites par Riedl en 1959 (p. 449 - fig. 7, *b* et *c*) lors de la germination des ascospores du *Leptosphaeria culmifraga* (Fr.) Ces. et De Not.

Enfin, les ébauches de pycnides que nous avions observées sur les milieux acides réapparaissent ici, et atteignent des stades plus évolués. Ces masses globuleuses pluricellulaires augmentent de taille et brunissent. La zone superficielle de la membrane, qui ne suit pas cet accroissement de volume, se fend et se desquame (fig. 5, *e*). En fin d'évolution, le cytoplasme se condense en éléments elliptiques, hyalins (fig. 5, *e*), libérés par rupture de la membrane. Nous avons là des organes qui fonctionnent comme certaines pycnides, mais il est à noter qu'ils arrivent rarement à maturité, même dans ce cas particulier de vie anaérobie.

## Conclusions

L'azote ammoniacal constitue une bonne alimentation, tant que le pH du milieu se maintient au-dessus d'une valeur située autour de 3,2. C'est probablement parce que l'acétate et l'oxalate d'ammonium ne faisaient pas tomber le pH des milieux au-dessous du seuil critique que Grewal (1955) les cite comme favorisant la croissance de l'*Alternaria tenuis,* contrairement aux autres sels d'ammonium (sulfate, bromure, monophosphate, chlorure) qu'il a expérimentés. Nous rejoignons ici les conclusions du travail de Bach (1927) sur les Mucorinées, qui affirmait que « les sels ammoniacaux d'acides forts constituent une source d'azote médiocre pour les Mucorinées. Le fait est dû à l'acidification intense des milieux. L'addition d'un tampon, comme le citrate de soude, en s'opposant à cette acidification, permet généralement d'obtenir le développement régulier de ces espèces ».

C'est le pH qui intervient (probablement en bloquant une réaction de la respiration) et qui fait apparaître tous les caractères de la vie anaérobie. Ces caractères ne sont pas exceptionnels chez les *Alternaria* et les *Stemphylium :* ils existent normalement dans les premiers stades de la germination des spores, qui se fait sous la forme éphémère d'hyphes à éléments globuleux, à croissance lente, et ayant une forte tendance à s'anastomoser. Après ce stade, de durée généralement assez brève, les derniers éléments globuleux produisent des hyphes à cellules cylindriques, de croissance rapide et qui s'anastomosent moins facilement. On peut supposer que les processus de la respiration normale ne s'établissent complètement qu'avec un retard de quelques heures sur la germination proprement dite.

D'autre part, comme les diverses espèces des genres *Alternaria* et *Pseudo-Stemphylium* présentent des réactions identiques, et comme plusieurs *Leptosphaeria* (Riedl, 1959; Simmons, 1952), dont le *Leptosphaeria culmifraga* lui-même, produisent indubitablement des formes conidiennes du type *Alternaria,* il n'est pas trop hasardeux de comparer le comportement de ce dernier aux phénomènes que nous avons observés. Les formations étranges décrites par Riedl, et dont nous avons retrouvé les homologues (fig. 5, *c* et 5, *d*), traduisent également un stade anaérobie lors de la germination des ascospores. Les deux sortes d'hyphes décrits par Riedl correspondent d'une part à des hyphes respirant normalement et d'autre part à des hyphes chez qui la phase initiale, fermentative, s'est prolongée anormalement : on observe effectivement ce phénomène lors de la germination de certaines spores d'*Alternaria.*

## BIBLIOGRAPHIE

AGARWAL G. P. — Nutritional studies on *Curvularia penniseti*. — II. Carbon and nitrogen requirements. *Phyton*, t. XI, p. 143-151, 1958.

BACH D. — La nutrition azotée des Mucorinées. — Assimilation des sels ammoniacaux. *C. R. Acad. Sc., Paris*, t. CLXXXIV, p. 766-768, 1927.

FERGUS C. L. — The nutrition of *Penicillium digitatum* Sacc. *Mycologia*, t. XLIV, p. 183-199, 1952.

GREWAL J. S. — Effect of nitrogen nutrition on growth and sporulation of *Alternaria tenuis* strain B, causing core rote of Apples. *Lloydia*, t. XVIII, p. 74-81, 1955.

JOLY P. — Recherches sur les genres *Alternaria* et *Stemphylium*. — II. Nutrition carbonée. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, t. LXXVIII, 1962 (sous presse).

LILLY V. G. et BARNETT H. L. — Physiology of the Fungi. *New-York, Mc Graw-Hill Book Co*, 464 p., 1951.

MACLEOD D. M. — Factors affecting the growth of the filamentous fungus *Hirsutella gigantea Petch*. Abstr. in *Proc. Canad. Phytopath. Soc.*, t. XXVII, p. 14, 1960.

MIX A. J. — Differences of species of *Taphrina* in culture — Utilization of nitrogen compounds. *Mycologia*, t. XLV, p. 649-670, 1953.

NEERGAARD P. — Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium* — Taxonomy, Parasitism, Economical significance. *Copenhague, E. Munksgaard*, 560 p., 1945.

NEWTON W. — The growth of *Sclerotinia sclerotium* and *Alternaria solani* in simple nutrient solutions. *Sci. Agric.*, t. XXVI, p. 303-304, 1946.

RAPER K. B. et THOM C. — A manual of the *Penicillia*. *Londres, Baillière, Tindall et Cox*, 875 p., 1949.

RIEDL H. — Kulturversuche zum Pleomorphismus einiger Pyrenomyzeten. *Oester. Bot. Zeitschr.*, t. CVI, p. 477-545, 1959.

SIMMONS E. G. — Culture studies in the genera *Pleospora, Clathrospora* and *Leptosphaeria*. *Mycologia*, t. XLIV, p. 330-365, 1952.

SRIVASTAVA J. P. — Effect of various nitrogenous compounds on the growth of *Alternaria tenuis* auct. *J. Indian Bot. Soc.*, t. XXX, p. 108-112, 1951.

STRIDER D. L. et WINSTEAD N. N. — Effect of temperature, pH and various nutrients on growth of *Cladosporium cucumerinum*. *Phytopath.*, t. L, p. 583-587, 1960.

Terroine E. et Wurmser R. — L'énergie de croissance. — I. Le développement de l'*Aspergillus niger*. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, p. 519-567, 1922.

Thind K. S. et Randhawa H. S. — Studies on the nutrition of *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler et Bisby, the incitant of dieback of Chillies. *Curr. Sci.*, t. XXVI, p. 17-18, 1957.

Thind K. S. et Rawla G. S. — Studies on the nutrition of fungi. — IV. The influence of different sources of nitrogen on the growth of three anthracnose fungi. *Proc. Indian Acad. Sci.*, sect. B., t. XXIX, p. 101-108, 1959.

Timnick M. B., Lilly V. G. et Barnett H. L. — The effect of nutrition on the sporulation of *Melanconium fuligineum* in culture. *Mycologia*, t. XLIII, p. 625-634, 1951.

Volkonsky M. — Sur la nutrition de quelques Champignons saprophytes et parasites. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, t. LII, p. 76-101, 1934.

Ward E. W. B. et Henry A. W. — Comparative response of two saprophytic and two plant parasitic soil fungi to temperature, pH, and nutritional factors. *Canad. J. Bot.*, t. XXXIX, p. 65-79, 1961.

Wolf F. T. — The utilization of carbon and nitrogen compounds by *Ustilago zeae*. *Mycologia*, t. XLV, p. 516-522, 1953.

*(Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.)*

NOTE SUCCINCTE

# Un dépérissement du Géranium rosat à Madagascar et à la Réunion

Par Claude et Mireille MOREAU

■

En novembre 1951, puis en janvier 1952, nous avons reçu de l'Institut de Recherche Scientifique de Madagascar des plants malades de Géranium rosat, *Pelargonium capitatum* Aiton, provenant de la région d'Antsirabé.

Les symptômes de la maladie, tels que les décrit le planteur, sont typiques d'un dépérissement : fanaison des feuilles d'abord d'un seul côté de la plante puis flétrissement généralisé et chlorose; les racines des plantes mortes présentent une pourriture noire et humide. Les dégâts sont importants, ils atteignent 60 % dans les pépinières de boutures.

Nous avions, à l'époque, pensé qu'il pouvait s'agir d'un flétrissement lié à un *Verticillium,* car il en était apparu un dans nos essais d'isolement (cf. Baudin, 1955). Cependant, tant en chambre humide qu'en culture, nous avions mis en évidence divers Champignons, en particulier un *Phoma* ou *Phomopsis* et un *Rhabdospora,* qui, avions-nous noté, paraissent appartenir à une même espèce. Un cortège de saprophytes, *Fusarium scirpi* Lamb. et Fautr. var *longipes* (E. et E.) Wr., *Acremoniella atra* Cda, *Trichothecium roseum* Lk., *Gliocladium, Epicoccum, Alternaria, Monochaetia,* etc., sans oublier le classique *Lasiodiplodia theobromae* Griff. et Maubl. accompagnent ces Champignons.

En février 1961, le Service de la Protection des végétaux de l'Ile de La Réunion nous faisait parvenir divers plants malades de Géranium cultivés dans la commune de Tampon. Les symptômes décrits dans la lettre qui accompagnait l'envoi ressemblent à ceux qui étaient constatés à Madagascar. En outre, les précisions suivantes sont données : la pourriture débute au niveau du cambium et de l'écorce (ce que nous avons constaté); elle peut commencer par la racine ou le

collet. La maladie opère dans les champs par taches plus ou moins importantes. Sur les parcelles contaminées, pomme de terre et haricots sont atteints du même flétrissement.

Les échantillons que nous avons examinés à leur arrivée présentent un grand développement d'un stroma diffus noirâtre, situé dans le cambium et s'étendant au liber et écorce, voire au bois et moelle dans les tissus très atteints. De ce stroma, après un long séjour en chambre humide, émergent des cols ostiolés dont la longueur peut atteindre 1 mm et par lesquels sortent en cirrhes des spores hyalines, biguttulées, elliptiques de 5 - 7,5 $\times$ 2,5 - 3µ. En outre, d'autres pycnides renferment des spores filiformes recourbées, hyalines, de 13 - 30 $\times$ 1µ.

Ces deux types de pycnospores, *Phomopsis* et *Rhabdospora*, appartiennent au même Champignon, elles apparaissent dans tous les tubes de cultures effectués à partir des tissus subissant un début d'attaque.

Les caractères morphologiques et culturaux de ce Champignon sont semblables à ceux du *Phomopsis citri* Faw. dont les stromas sont typiques (Moreau, 1952).

Il s'agirait du *Diaporthe medusae* Nit., déjà signalé sur *Geranium* (le nom de *D. elephantina* Cke et Hark. lui avait été donné) mais capable d'attaquer de nombreuses plantes, en particulier les Agrumes (où ses dégâts sont connus sous le nom de mélanose). Seul l'habitat ligneux de ce *Diaporthe* le distingue du *Diaporthe phaseolorum* (Cke et Ell.) Sacc., selon la conception de Wehmeyer (1933), espèce que l'on rencontre sur *Phaseolus, Solanum* et *Zea;* nous pensons que la distinction de ces deux espèces est fort fragile.

Des *Rhabdospora,* comme le *Rhabdospora caespitulosa* Sacc. décrit sur Géraniacées et que Malençon a trouvé au Maroc en 1932 sur un Géranium rosat (cf. Rieuf, 1960), pourraient bien n'être que la forme stylosporée de ce *Diaporthe.*

Comme dans les essais d'isolement à partir des Géraniums de Madagascar, nous avons mis en évidence sur les plants de La Réunion dans les tissus malades un cortège de saprophytes comportant notamment le *Melanospora zamiae,* un *Cylindrocarpon,* le *Lasiodiplodia theobromae,* le *Gliocladium roseum,* etc.

## BIBLIOGRAPHIE

WEHMEYER L. E. — The genus *Diaporthe* Nitschke and its segregates. *Univ. Michigan Press,* 349 p., 1933.

BAUDIN P. — Les maladies des plantes à parfum tropicales. *Rev. de mycol.,* t. XX, Suppl. col. n° 2, p. 73-112, 1955.

MOREAU C. et M. — *Phomopsis citri* Faw. — Mélanose des Agrumes. Fiche de phytopathologie tropicale n° 8, 6 p., 3 fig., 1952.

RIEUF P. — Organismes pathogènes et saprophytiques des plantes au Maroc. *Les cahiers de la Recherche agronomique,* Rabat, n° 9, 359 p., 1960.

*(Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.)*

## ANALYSES

■

**R. Dadant, R. Rasolofo** et **P. Baudin.** — Liste des maladies des plantes cultivées à Madagascar. *Publ. Inst. Rech. Agron. Madagascar.*, 94 p. ronéotypées, 1960.

Plus qu'un simple inventaire, cette publication apporte des renseignements sur la gravité relative, la fréquence, la nature des dégâts des diverses maladies des cultures de Madagascar ainsi que quelques conseils de lutte. Les plantes-hôtes sont présentées dans l'ordre alphabétique des noms vernaculaires. Un index bibliographique de 109 titres et un index alphabétique des Champignons cités complètent cette mise au point. Une liste additive sera publiée chaque année.

**Elio Baldacci.** — Problemi e sviluppi attuali di patologia delle piante coltivate. *Annali della Facoltà di Agraria,* t. VII, 202 p., 17 pl., 1960.

Ce rapport d'activité de l'Institut de pathologie végétale de Milan concerne la période 1948-1958. Après des renseigenments sur l'organisation générale et le fonctionnement des laboratoires, cette notice aborde un nombre important de problèmes qui ont été étudiés. Ceux-ci ont essentiellement trait à la pathologie de la Vigne, du Riz, de la Pomme de terre, des Agrumes, des arbres forestiers, etc. Champignons, virus et maladies de carences, sont envisagés. La lutte antiparasitaire et le désherbage chimique ne sont pas négligés. Un index de 349 références et la photographie des installations scientifiques complètent cette utile mise au point.

**P. D. Turner** et **Wharton A. L.** — Leaf and stem infections of *Theobroma cacao* L. in West Africa caused by *Phytophtora palmivora* (Butl.) Butl. *Tropical Agriculture,* t. XXXVII, fasc. 4, p. 321-324, 1960.

Le *Phytophthora palmivora* était jusqu'alors considéré en Afrique occidentale comme responsable de la pourriture des cabosses de Cacaoyers. Son rôle dans une affection chancreuse du tronc vient d'être mis en évidence au Ghana, en Nigéria, à Fernando Po et au Cameroun. Dès 1954 (*Rev. de Mycol.,* t. XIX, Suppl. col. n° 2, p. 55-57, 1954) nous l'avions soupçonné en Côte d'Ivoire où nous avions isolé ce Champignon à partir de *Citrus* malades en bordure des Cacaoyères et où nous avions constaté des symptômes typiques sur les troncs de Cacaoyers. Il s'agit donc, vraisemblablement, d'une maladie généralisée à toutes les cultures de Cacaoyers d'Afrique occidentale.

C. M.

IMPRIMERIE LOUIS-JEAN – GAP
Dépôt légal : 105 – 1962

## ABONNEMENTS

Le prix d'abonnement à la **Revue de Mycologie** pour le Tome XXVI (1961) a été fixé à :

**18 NF** pour la France et la Communauté.

Pour les pays étrangers : **23 NF.**

---

PRIX DES TOMES I (1936) à XXV (1960)

Chaque Tome :

| | |
|---|---|
| **France et Communauté** ..................... | **21 NF** |
| **Etranger** ................................ | **26 NF** |

---

MEMOIRES HORS-SERIE

Nº 1 (1938). **Les Truffes,** par G. Malençon (épuisé).

Nº 2 (1942). **Les matières colorantes des champignons,** par I. Pastac. 88 pages. France : 8 NF. Etranger : 10 NF.

Nº 3 (1943). **Les constituants de la membrane chez les champignons,** par R. Ulrich. 44 pages. France : 2.50 NF. Etranger : 3,50 NF.

Nº 4 (1950). **Les Champignons et nous,** par G. Becker. 80 pages (Chroniques). France : 4 NF. Etranger : 5 NF.

Nº 7 (1959). **Les Champignons et nous** (II), par G. Becker. 94 pages (Chroniques). France : 5 NF. Etranger : 6 NF.

Nº 5 (1950). **La Culture du Champignon de couche,** par L. Loireau. 96 p., pl. et fig. France : 9 NF. Etranger : 11 NF.

N° 6 (1958). **Essai biotaxonomique sur les Hydnés résupinés et les Corticiés.** Etude spéciale du comportement nucléaire et des mycéliums, par J. Boidin. 390 p., pl. et fig. France : 32 NF. Etranger : 35 NF.

---

FLORE MYCOLOGIQUE DE MADAGASCAR ET DEPENDANCES,
publiée sous la direction de M. Roger HEIM

Tome I. Les Lactario-Russulés, par Roger Heim (1938). 196 pages, 60 fig., 8 pl. hors-texte. France : 30 NF. Etranger : 36 NF.

Tome II. Les Rhodophylles, par H. Romagnesi (1941). 164 pages, 46 fig. France : 15 NF. Etranger : 18 NF.

Tome III. Les Mycènes, par Georges Métrod (1949). 144 pages, 88 fig. France : 15 NF. Etranger 18 NF.

Tome IV. Les Discomycètes, par Marcelle Le Gal (1953). 465 pages, 172 fig. France : 65 NF. Etranger : 80 NF.

---

Prix de ce fascicule :

| | |
|---|---|
| France ........................ | **4 NF** |
| Etranger ...................... | **5,50 NF** |